

氏名 早 瀬 康 博

授与した学位 博 士
専攻分野の名称 歯 学

学位授与の番号 博 乙 第 号

学位授与の日付 平 成 1 4 年 3 月 2 5 日

学位授与の要件 博士の学位論文提出者(学位規則第4条第2項該当)

学位論文題名 口腔扁平上皮癌放射線照射効果に関する免疫組織化学的研究

論文審査委員 教授 永井 教之 教授 松村 智弘 教授 岸 幹二

学 位 論 文 内 容 の 要 旨

本研究では、化学的発癌モデルを用いて、癌の放射線照射後の変化を病理組織学的、免疫組織化学的に観察し、その染色性の変化を照射効果との関連性について検索した。

材料と方法

生後 5 週齢雄ゴールデンハムスターを用い、化学的発癌剤である 1% 9,10-dimethyl-1,2-benzanthracene アセトン溶液塗布により、舌縁部に癌を形成させた。ハムスターを麻酔下で、舌を縫合糸により牽引突出させた状態で固定し、舌部のみに対して、局所照射を行った。X 線照射は、舌表面における吸収線量 20Gy の 1 回照射とした。照射 7 日後、発癌群、照射群および対照群に対し、舌組織を摘出し、ホルマリン固定、パラフィン包埋を行い、連続切片を作製し、HE 染色および免疫組織化学染色(抗 Cytokeratin 抗体: keratin wide spectrum screening、PKK-1、抗 Vimentin 抗体、抗 Involucrin 抗体、抗 PCNA 抗体)に用いた。

Labeling Index (LI)の計測と統計処理: 顕微鏡視野における 5~10 の領域において、1000 から 2000 の細胞について以下の式を用いて、Labeling Index (LI)を計算した。

Labeling index(LI)=(BrdU あるいは PCNA 陽性細胞数×100)/全細胞数とした。

結果

1. 免疫組織化学染色所見

a. 正常舌組織: Wide spectrum keratin は、上皮全体で陽性、PKK-1、BrdU、PCNA は、基底細胞層において陽性、Vimentin は陰性、Involucrin は中間層において陽性を示した。

b. 高分化型扁平上皮癌 : Wide spectrum keratin は、癌胞巣の全域において陽性、PKK-1、BrdU、PCNA は癌胞巣の辺縁部で陽性、Vimentin は、陰性、Involucrin は癌胞巣一部において陽性を示した。

c. 中等度～低分化型扁平上皮癌 : Wide spectrum keratin は、癌胞巣全体において陽性、PKK-1、BrdU、PCNA は、癌胞巣辺縁部および間質への癌浸潤部で陽性、Vimentin は陽性、Involucrin は陰性を示した。

d. 照射扁平上皮癌組織 : Wide spectrum keratin、PKK-1、BrdU、PCNA では、照射効果の認められた領域において染色性の低下が認められた。

2. PCNA、BrdU 陽性率 (LI) (Mean±SD)

a. PCNA : 正常群 : $4.2 \pm 2.1\%$ 、高分化型扁平上皮癌 : $28.6 \pm 10.4\%$ 、低・中分化型扁平上皮癌 : $30.0 \pm 8.3\%$ 、照射群 : $12.3 \pm 4.3\%$

b. BrdU : 正常群 : $3.8 \pm 2.4\%$ 、高分化型扁平上皮癌 : $16.6 \pm 7.1\%$ 、低・中分化型扁平上皮癌 : $22.8 \pm 5.5\%$ 、照射群 : $8.6 \pm 2.8\%$

考察

Vimentin は、より分化度の低い癌胞巣部で陽性を示し、Involucrin は、より高分化の癌胞巣において陽性を示した。従って、Vimentin、Involucrin は分化度のマーカーとなりうると考えられた。

放射線照射後の扁平上皮癌組織において、病理組織上、形態的に明らかに照射効果のあった領域での LI は、BrdU、PCNA とともに非照射の扁平上皮癌における LI に比し、有意に減少した。また、Wide spectrum keratin および PKK-1 は、同領域において、染色性が低下する傾向が認められた。従って、BrdU および PCNA の発現レベル、および Wide spectrum keratin および PKK-1 による染色性は、放射線治療効果判定の指標となる可能性があると考えられた。

細胞核のみ染色される抗体 (BrdU、PCNA) は、客観的な数値として陽性率が求められるが、腫瘍の局在の把握が困難である。一方、細胞質が染色される抗体 (Cytokeratin、Vimentin、Involucrin) は、上皮性腫瘍の局在の描出に優れているが、定量的評価ができない。従って、これら増殖関連抗体 (BrdU、PCNA) および細胞骨格に対する抗体 (Cytokeratin、Vimentin、Involucrin) の組み合わせにより、組織学的に照射効果を、より客観的に判定することが出来ると考えられた。

論文審査結果の要旨

口腔悪性腫瘍の多くを占める扁平上皮癌にたいする治療法として、放射線治療は、手術療法や化学療法と並んで極めて重要な位置にある。本研究は、化学的発癌を用いて、この放射線治療効果判定の前提として、放射線照射効果の組織変化の態様を免疫組織化学の手法によって明らかにしようとしたものである。その結果、

1. Vimentin はより分化度の低い癌胞巣部で陽性を示し、involucrin はより高分化の癌胞巣で陽性を示したことから、vimentin、involucrin は分化度のマーカーとなると考えられた。

2. Wide spectrum keratin および PKK-1 は、照射を受けた癌組織の照射効果の認められた領域において染色性の低下を示した。また、より分化度の低い癌胞巣においてより広範囲に染色性の低下を認めた。

3. BrdU, PCNA とも、正常舌組織の基底細胞層の細胞核において陽性を示し、癌胞巣の辺縁部及び浸潤している部分の細胞核や、より低分化の癌胞巣において陽性を示した。照射効果の認められた領域において染色性の低下を認め、より分化度の低い癌胞巣では染色性はさらに低下した。

4. BrdU, PCNA とも照射効果の認められた領域においては、非照射扁平上皮癌よりも低い陽性率を示し、照射低分化癌においては照射高分化癌よりも低い陽性率を示す傾向があった。

以上の内容は、放射線照射効果が、癌の分化程度に応じて推移することをしめすものであり、低分化型に放射線感受性が高いことを免疫組織化学的に確認したものと評価できる。よって本論文は学位論文として価値あるものと認めた。